

6-O-取代阿昔洛韦衍生物的合成及其抗病毒活性

Synthesis and antiviral activities of 6-O-substituted acyclovir derivatives

吴秋业¹, 马维勇², 肖旭华², 廖洪利¹, 倪瑾³, 何邦平¹

(1. 第二军医大学药学院有机化学教研室, 上海 200433; 2. 上海医药工业研究院化学部, 上海 200437; 3. 第二军医大学海军医学系防原医学教研室, 上海 200433)

[摘要] **目的:**通过对阿昔洛韦分子中碱基的结构修饰,设计并合成 6-O-取代阿昔洛韦衍生物,并初步测定它们的抗病毒活性。**方法:**以阿昔洛韦为先导化合物,合成一系列 6-O-取代阿昔洛韦衍生物,并以阿昔洛韦为阳性对照对猴肾细胞 Vero 进行体外抗 HSV-I 和 HSV-II 病毒活性测定。**结果:**合成了 6-O-取代阿昔洛韦衍生物 10 个,结构均经过元素分析或 MS 确认。部分目标化合物具有一定的体外抗 HSV-I 和 HSV-II 病毒活性(MIC 分别为 25, 50 ng · L⁻¹),但较阿昔洛韦(MIC 为 2 ng · L⁻¹)作用弱。**结论:**所合成的目标化合物虽然可能在体内更易于吸收,但体外初步抗病毒活性实验结果表明作用较弱。

[关键词] 阿昔洛韦; 6-O-取代衍生物; 合成; 抗病毒药**[中图分类号]** R 978.7**[文献标识码]** B**[文章编号]** 0258-879X(2005)02-0218-02

开环核苷类化合物阿昔洛韦(aciclovir, ACV)具有较强的抗疱疹(HSV)病毒及抗乙型肝炎病毒(HBV)等活性^[1],但其水溶性小,口服吸收差,生物利用度低。因此,人们合成并筛选了大量的 ACV 衍生物,取得了重大进展^[2]。对阿昔洛韦结构改造而发现的地昔洛韦(desciclovir)水溶性大,且口服易于吸收,吸收后在体内可转变为阿昔洛韦,其血药浓度可达口服阿昔洛韦的 5~6 倍。同样,喷昔洛韦的前药泛昔洛韦也有相同优点。本研究从改善阿昔洛韦的水溶性及吸收考虑,以一系列烷氧或芳氧基取代阿昔洛韦嘌呤环的 6-羟基,共设计合成了 6-O-取代阿昔洛韦衍生物 10 个。结构见图 1。

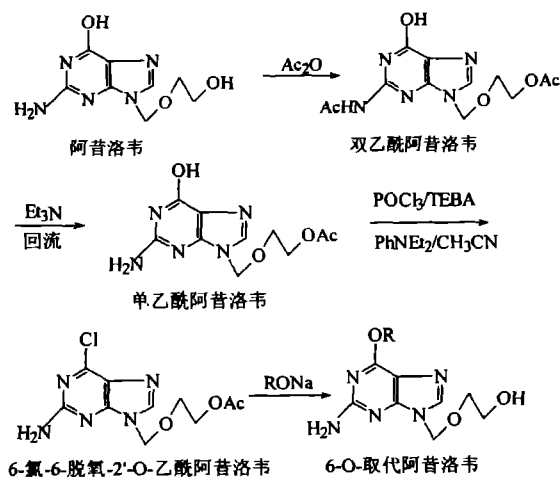


图 1 6-O-取代阿昔洛韦衍生物的合成设计

R: 不同取代基团, 详见表 1

1 材料和方法

1.1 试剂和仪器 熔点由毛细管熔点仪测定,温度计未校正。元素分析仪为 Carlo Erba 1106 型自动元素分析仪。质谱分析仪为 F-MAT212 型。薄层层析(TLC)用硅胶 GF₂₅₄, 柱层析用硅胶 H(10~40 μm)。猴肾细胞 Vero 购自上海宇立生物技术有限公司。

1.2 目标化合物的合成

1.2.1 双乙酰阿昔洛韦的合成 取阿昔洛韦 16.5 g(0.073 mol)和醋酐 100 ml,加热搅拌,回流反应 3~5 h, TLC 显示反应完成,减压蒸除醋酐,放冷,过滤,用二氯甲烷、丙酮及水洗滤饼,最后再用丙酮洗涤 1 次,烘干即得。母液蒸除醋酐等溶剂得固体,丙酮、水、丙酮洗涤又得部分固体,两者合并得双乙酰阿昔洛韦 19.0 g,产率为 84.0%, m. p. 189~191°C,文献^[3]值为 189~190°C。

1.2.2 单乙酰阿昔洛韦[9-(2-乙酰氧乙氧基甲基)鸟嘌呤]的合成 取双乙酰阿昔洛韦 15.5 g(0.05 mol),加入 1 mol · L⁻¹三乙胺乙醇液 200 ml,回流搅拌反应 10 h,放置过夜,过滤,滤饼用乙醇多次洗涤,烘干,得单乙酰阿昔洛韦 12.6 g,产率为 94.0%, m. p. 238~240°C,文献^[4]值 240~242°C。

1.2.3 6-氯-6-脱氧-2'-O-乙酰阿昔洛韦的制备^[4] 取充分干燥的单乙酰阿昔洛韦 1.35 g(0.005 mol),三乙基苯基氯化铵(TEBA) 2.3 g(0.012 mol),加入无水乙腈 25 ml 和 N,N-二乙基苯胺 0.8 ml,再加入新蒸馏过的三氯氧磷 2.8 ml,搅拌,加热升温至回流,回流反应 10 min,减压蒸除乙腈,倾入适量冰水中,用 NaHCO₃ 饱和水溶液碱化至 pH 6.0~6.5,氯仿萃取(60 ml × 5),合并萃取液,无水 Na₂SO₄ 干燥,回收溶剂,残留物柱层析分离(乙酸乙酯)得重要中间体 6-氯-6-脱氧-2'-O-乙酰阿昔洛韦 1.05 g,产率为 73.0%, m. p. 124~125°C,文献^[4]值为 126~127°C。元素分析(C₁₀H₁₂ClN₅O₃): 理论值(C: 42.11%; H: 4.21%; N: 24.56%),实测值(C: 41.75%; H: 4.17%; N: 24.44%)。MS: m/z 285(M⁺)。

1.2.4 6-O-取代阿昔洛韦的制备 以 6-O-苯乙基阿昔洛韦的制备为例。取钠 0.46 g(0.02 mol)置于 30 ml 苯乙醇中,

[作者简介] 吴秋业(1964-),男(汉族),博士,副教授,硕士生导师。
Tel: 021-25070381, E-mail: qywu@smmu.edu.cn

待钠片溶解后,加入 6-氯-6-脱氧-2'-O-乙酰阿昔洛韦 0.571 g (0.002 mol),加热搅拌,60℃反应 10 h, TLC 显示反应基本完成,放冷,加入适量水,用氯仿萃取(60 ml×4),合并萃取液,用无水 Na₂SO₄ 干燥过夜,蒸除氯仿,得残留液,经柱层析分离[氯仿-氯仿:甲醇(6:1)梯度洗脱],得目标化合物(5)0.45 g,收率为 52.4%, m. p. 165~166℃。其余目标化合物均按类似方法制备。

1.3 体外抗病毒活性测定 精确称量测试化合物溶于 1 ml 二甲亚砜(DMSO)中,配制成浓度约为 5 mg·ml⁻¹的溶液,再用 Vero 细胞培养液稀释至不同工作浓度。用 pH 7.4 的 RPMI 1640 液稀释 HSV-I 和 HSV-II 病毒原液至 10 倍感








染剂量(TCID)。在 96 孔板上种入 Vero 细胞,37℃、5%CO₂ 培养 24~48 h。用 10TCID 的病毒液感染 Vero 细胞 2 h,然后加入不同浓度的药液,并设 Vero 细胞对照、病毒对照及阳性药物(阿昔洛韦)对照。37℃、5%CO₂ 继续培养 48 h 后,显微镜下观察细胞病变(CPE),确定药物对 HSV-I 和 HSV-II 的有效作用浓度。

2 结果和讨论

共合成 10 个目标化合物,均未见文献报道,其结构经元素分析或质谱测试所证实。

化合物的理化数据、波谱数据见表 1。

表 1 6-O-取代阿昔洛韦衍生物的理化数据、元素分析结果及体外抗病毒活性

序号	取代基(R)	分子式	熔点(t/℃)	收率(%)	理论值(%)			实测值(%)			MIC (μg/ng·L ⁻¹)	
					C	H	N	C	H	N	HSV-I	HSV-II
1	CH ₂ CH=CH ₂	C ₁₁ H ₁₃ N ₅ O ₃	148~150	87.4	49.81	5.66	26.42	49.37	5.71	26.86	>50	>50
2	CH ₂ CH ₂ OCH ₃	C ₁₁ H ₁₇ N ₅ O ₄	137~139	92.4	46.64	6.00	24.73	46.28	6.05	24.69	25	25
3	CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂	C ₁₂ H ₂₀ N ₆ O ₃	136~138	64.6	48.65	6.76	28.38	48.53	6.85	28.00	>50	>50
4		C ₁₄ H ₂₁ N ₅ O ₅	143~145	75.2	49.50	6.19	20.65	49.38	6.20	20.72	>50	>50
5		C ₁₆ H ₁₉ N ₅ O ₃	165~166	71.5	58.34	5.78	21.28	58.72	5.74	21.47	50	50
6		C ₂₀ H ₁₉ N ₅ O ₃	163~165	69.9	63.66	5.04	18.57	63.17	5.04	18.71	>50	>50
7		C ₁₅ H ₁₇ N ₅ O ₄	157~159	77.0	54.38	5.14	21.15	54.08	5.09	21.14	>50	>50
8		C ₁₅ H ₁₇ N ₅ O ₄	160~162	67.2	54.38	5.14	21.15	54.33	5.07	21.11	>50	>50
9		C ₁₆ H ₁₇ N ₅ O ₃	164~166	62.7	53.48	4.74	19.50	53.26	4.79	19.53	>50	>50
10		C ₁₈ H ₁₇ N ₅ O ₃	127~129	59.9	351.132 568 ^a			351.133 130 ^a			>50	>50

^a: Determinated by HR-MS

侧链乙酰化保护的阿昔洛韦嘌呤环上 6-羟基的氯代,需高活性的三氯氧磷做氯化剂,¹³NMR 提示,鸟嘌呤嘧啶环的 6-羟基事实上在常温条件下是以内酰胺结构存在,极难氯代。本实验参考有关文献^[4],以廉价易得的 TEBA 做相转移催化剂,用 N,N-二乙基苯胺为脱酸剂和催化剂完成了氯代反应。在柱层析时我们改用乙酸乙酯单一溶剂做洗脱系统,避免使用毒性极大的苯,层析时产品 R_f 值保持在 0.45 左右。

初步的体外抗病毒活性测定结果(表 1)表明,对于 HSV-I 和 HSV-II 病毒,阿昔洛韦的最低抑制浓度(MIC)为 2 ng·L⁻¹,所合成的 10 个化合物中仅化合物(2)的 MIC 为 25 ng·L⁻¹,化合物(5)的最低抑制浓度为 50 ng·L⁻¹,其他化合物在 50 ng·L⁻¹ 质量浓度时仍无抗病毒活性。可见阿昔洛韦分子中碱基嘌呤环上引入各种取代基,虽然可能增加了目标化合物在体内的吸收,但或许它们不能在细胞内转变为阿昔洛韦,故在体外 Vero 细胞模型筛选条件下难以发挥

抗病毒活性,其药理作用尚有待于进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 曾文,王平,张舒,等. 阿昔洛韦和中药 1 号体外抗乙型肝炎病毒的活性研究[J]. 中国药理通讯,2003,20(2):50.
- [2] 吴秋业,郭培恩,廖洪利,等. 核苷类抗病毒药物的研究概况[J]. 药学实践杂志,2003,21(5):267-271.
- [3] Matsumoto H, Kaneko C, Yamada K, et al. A convenient synthesis of 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine (acyclovir) and related compounds[J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(3): 1153-1157.
- [4] Stimac A, Kobe J. A new synthesis of acyclovir prodrugs. N²-acetylacyclovir and 6-deoxyacyclovir[J]. *Synthesis*, 1990, (6): 461-464.

[收稿日期] 2004-06-21

[修回日期] 2004-09-23

[本文编辑] 尹茶